基于线粒体 COⅡ基因的中国大豆食心虫不同地理种群遗传分化分析

朱诗禹, 徐　伟, 高　宇, 崔　娟, 欧师琪, 史树森*

(吉林农业大学农学院, 大豆区域技术创新中心, 长春 130118)

摘要:【目的】大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella* (Matsumura)是我国大豆 *Glycina max* 最重要的蛀荚害虫。本研究旨在探讨中国大豆食心虫不同地理种群的遗传分化情况。【方法】通过测定大豆食心虫 19 个地理种群 208 头老熟幼虫的线粒体 COⅡ基因序列(723 bp),利用 MEGA6.0 和 DnaSP 5.0 等软件分析大豆食心虫不同地理种群的基因序列变异和遗传分化情况。【结果】在 19 个大豆食心虫地理种群中共获得 208 条 COⅡ基因序列,发现 61 个变异位点,包含 57 个单倍型。总群体单倍型多样度 *Hd* = 0.8522,各地理种群单倍型多样度范围在 0.1818 ~ 0.9546 间,总群体的固定系数 *Fst* = 0.4619,总遗传分化系数 *Gst* = 0.1186,总基因流 *Nm* = 0.29。总群体 Tajima's *D* 检验结果不显著,表明大豆食心虫在较近的历史时期未出现群体扩张现象,群体大小稳定。单倍型网络图、ML 单倍型系统树及采用不同地理种群间遗传距离构建的 UPGMA 系统发育树均显示,贵阳(GY)和都安(DA)种群与其余地理种群分化明显。AMOVA 分子变异分析结果显示,东北组、西北组、黄淮组、华南组及西南组种群组间所占总变异的比例大于组内。【结论】大豆食心虫不同地理种群间基因交流较少,整体的遗传多样性和遗传分化程度较高,遗传分化主要来自地理种群组间,且地理距离是影响不同地理种群间遗传距离的重要因素。

关键词: 大豆食心虫; 线粒体 COⅡ基因; 地理种群; 遗传分化; 基因流

中图分类号: Q963　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 0454-6296(2017)04-0475-12

Analysis of the genetic differentiation among geographic populations of *Leguminivora glycinivorella* (Lepidoptera: Olethreutidae) in China based on mitochondrial COII gene sequences

ZHU Shi-Yu, XU Wei, GAO Yu, CUI Juan, OU Shi-Qi, SHI Shu-Sen* (Innovation Center of Soybean Region Technology, College of Agriculture, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract:【Aim】*Leguminivora glycinivorella* (Matsumura) is one of the major pests of soybean *Glycina max* in China. This study aims to investigate the genetic differentiation among different geographic populations of *L. glycinivorella* in mainland China.【Methods】A 723 bp segment of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit II (COII) gene in 208 mature larvae from 19 geographic populations of *L. glycinivorella* in China was sequenced and analyzed. The genetic differentiation and sequence variation were analyzed using MEGA6.0 and DnaSP 5.0.【Results】Among the alignment of 208 COII sequences from 19 geographic populations of *L. glycinivorella*, 61 variable sites and 57 haplotypes were identified. The total haplotype diversity index (*Hd*) was 0.8522, and the range of haplotype diversity of different populations was 0.1818 - 0.9546. The total fixed coefficient (*Fst*), total genetic differentiation coefficient (*Gst*) and total gene flow (*Nm*) were 0.4619, 0.1186 and 0.29, respectively. No significant difference among different populations was found by Tajima's *D* test, suggesting that there might be no population expansion in recent history of *L. glycinivorella* and the population size is stable. Analysis of

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-04)

作者简介: 朱诗禹, 女, 1990 年 5 月生, 吉林和龙人, 硕士, 研究方向为害虫综合治理, E-mail: 1119493324@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: sss-63@263.net

收稿日期 Received: 2016-09-27; 接受日期 Accepted: 2017-02-28

haplotype networks, ML phylogenetic trees of haplotypes and UPGMA phylogenetic trees based on the genetic distance of different geographic populations showed that Guiyang (GY) and Du'an (DA) populations had obvious genetic differentiation with other populations. Molecular variance analysis (AMOVA) of geographic populations demonstrated that the percentage of variation among the population groups of Northeast China, Northwest China, Huang-Huai region, South China, and Southwest China was higher than those within each population group.【Conclusion】The results revealed that there is less gene flow among different geographic populations of *L. glycinivorella*, which have high-degree whole genetic diversity and genetic differentiation. And the observed genetic differentiation primarily occurs among population groups of different geographic regions. The geographic distance has important influence on the genetic distance of different geographic populations of *L. glycinivorella*.

Key words: *Leguminivora glycinivorella*; mitochondrial COII gene; geographic population; genetic differentiation; gene flow

大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella* (Matsumura)，别名豆荚蠹，又名大豆蛀荚蛾、小红虫、豆荚虫等，在系统分类上隶属鳞翅目(Lepidoptera)小卷蛾科(Olethreutidae)，是我国大豆重要蛀荚害虫(史树森等，2014)。该虫每年发生1代，并以老熟幼虫在土壤内作茧越冬，其食性单一，仅危害大豆、野生大豆和苦参(徐庆丰等，1965)。其幼虫蛀入豆荚取食籽粒，虫食粒率轻者为10% ~20%，重者可达50%以上，可使大豆减产20% ~30%，严重影响大豆的产量和品质，且该虫在我国东北、华北、西北、西南和华东等地均有分布(庞春杰等，2012)。因此，有必要从遗传本质上了解全国大豆食心虫不同地理种群的遗传多样性，明确该害虫对不同生态环境的适应机制，为该害虫的综合治理提供理论依据。

国内外学者对于大豆食心虫生物学特性(徐庆丰等，1965；Sakagami *et al*., 1985；史树森等，2014)、形态学(杨啸等，2012)、性信息素(胡代花等，2012；Hu *et al*., 2013)、防治技术(宋鹏翔等，2014；赵云彤等，2015；Song *et al*., 2015)及28S rRNA基因全序列的克隆及表达分析(李冬梅等，2012)等方面进行了研究，但迄今有关大豆食心虫地理种群的遗传结构及分化方面的报道较少，仅见王红等(2014)采用COI基因和Wang等(2015)采用COII和Cytb基因对中国东北地区大豆食心虫地理种群进行了遗传多样性及基因流分析，研究结果显示大豆食心虫种群内遗传多样性水平处于中低等水平，种群间的基因交流并未受到地理距离的影响。但该研究仅针对东北春大豆区不同大豆食心虫种群。

大豆食心虫在我国各大豆产区均有分布，取样范围和区域代表性对研究其地理种群分化至关重要。线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)中的COⅡ片段已成为研究昆虫系统发育、种群遗传变异和分化等较好的分子标记(李菁等，2010；梁日霞等，2011；李冉等，2015)。采用COⅡ片段探讨大豆食心虫不同地理种群间的遗传分化情况，可有效地研究大豆食心虫种内地理分布格局。本研究选用线粒体COⅡ作为分子标记，通过对中国不同区域大豆食心虫19个地理种群的种群遗传结构和变异进行研究，分析其不同地理种群的遗传分化程度、遗传多样性及基因交流水平，以期为全面探讨中国大豆食心虫不同地理种群间的系统发育及进化关系提供更全面完整的遗传学证据，进而为该害虫的区域性发生规律研究和防治策略制定等提供分子生物学基础理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试虫源：本研究以中国10省(区)共19个地理种群的大豆食心虫老熟幼虫作为供试虫源。寄主为当地栽培大豆。将成熟期的大豆收割后置于铺设有塑料布的田间地面或晒场水泥地面上，于当日中午采集自主脱荚的老熟幼虫，将其浸泡于无水乙醇中，并标注样品信息。浸泡的第一个月需更换无水乙醇3 ~4次，后置于 -70℃超低温冰箱中保存备用。各地理种群的具体采集信息及地理群体缩写代码详见表1。

1.1.2 供试试剂：RNase A酶、蛋白酶K、DL2000 DNA Marker、6 × Loading buffer、50 × TAE、琼脂糖N、Taq PCR Master Mix扩增试剂盒和Ezup柱式动物基因组DNA抽提试剂盒均购自生工生物工程上海(股份)有限公司。

1.2 大豆食心虫基因组DNA的提取

19个大豆食心虫地理种群的单头老熟幼虫经

表 1　中国大豆食心虫不同地理种群样本信息

Table 1　Sampling data of different geographic populations of *Leguminivora glycinivorella* in China

序号 No.	种群代码 Population code	样本数 Number of specimens	采集地点 Collecting locality	地理坐标 Geo-coordinates	采集时间 Collecting date
1	DA	11	广西都安 Du'an, Guangxi	23°94′N, 108°09′E	2013.10
2	GY	12	贵州贵阳 Guiyang, Guizhou	26°50′N, 106°65′E	2014.8
3	DF	8	贵州大方 Dafang, Guizhou	27°08′N, 105°35′E	2015.8
4	SZ	11	安徽宿州 Suzhou, Anhui	33°63′N, 116°97′E	2015.9
5	XZ	14	江苏徐州 Xuzhou, Jiangsu	34°12′N, 117°16′E	2014.10
6	YA	10	陕西延安 Yan'an, Shaanxi	36°60′N, 109°47′E	2015.10
7	CZ	10	河北沧州 Cangzhou, Hebei	38°33′N, 116°83′E	2013.10
8	PLD	11	辽宁普兰店 Pulandian, Liaoning	39°23′N, 121°58′E	2014.9
9	SY	12	辽宁沈阳 Shenyang, Liaoning	41°48′N, 123°25′E	2014.10
10	BX	11	辽宁本溪 Benxi, Liaoning	41°17′N, 123°45′E	2015.10
11	TL	12	辽宁铁岭 Tieling, Liaoning	42°17′N, 123°50′E	2014.10
12	CF	10	内蒙古赤峰 Chifeng, Inner Mongolia	42°28′N, 118°87′E	2014.10
13	HL	12	吉林和龙 Helong, Jilin	42°32′N, 129°0′E	2014.10
14	CC	12	吉林长春 Changchun, Jilin	43°05′N, 124°18′E	2015.10
15	AT	11	吉林安图 Antu, Jilin	43°06′N, 128°53′E	2014.10
16	SH	12	黑龙江绥化 Suihua, Heilongjiang	46°39′N, 126°57′E	2014.10
17	JMS	9	黑龙江佳木斯 Jiamusi, Heilongjiang	46°47′N, 130°18′E	2014.10
18	ZLT	10	内蒙古扎兰屯 Zhalantun, Inner Mongolia	48°0′N, 122°43′E	2015.10
19	HH	10	黑龙江黑河 Heihe, Heilongjiang	50°15′N, 127°28′E	2014.9

双蒸水漂洗、吸水纸吸干，液氮研磨成粉末后采用 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取虫体基因组 DNA。提取的 DNA 样品经 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测，电泳条带需清晰明亮，合格样品保存于 -20℃冰箱中备用。

1.3　大豆食心虫线粒体 DNA COⅡ基因片段 PCR 扩增和产物测序

19 个大豆食心虫地理种群线粒体 DNA COⅡ基因片段 PCR 扩增上游、下游引物参照 Simon 等(1994)的通用引物：TL2-J-3037：5′-ATGGCAGATT ATATGTAATGG-3′；TK-N-3785：5′-GTTTAAGAGA CCAGTACTTG-3′。

PCR 扩增采用 Taq PCR Master Mix 扩增试剂盒，反应体系为 50 μL：Taq PCR Master Mix 25 μL，ddH_2O 18 μL，19 个地理种群大豆食心虫基因组 DNA 模板(10 μg/mL)2 μL，上下游引物(10 mmol/L)各 2 μL，Mg^{2+}(25 mmol/L) 1 μL。扩增反应条件：94℃预变性 2 min；94℃变性 30 s，52℃退火 30 s，72℃延伸 1 min，共进行 35 个循环；最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物 5 μL 于 0.8% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测，凝胶成像分析系统观察并拍照，确定扩增成功的委托华大基因科技有限公司测序。

1.4　数据分析

将测序所得的 19 个大豆食心虫地理种群线粒体 DNA COⅡ基因序列采用 Chromas 软件读取并观察峰值，通过 MEGA6.0（Tamura *et al.*，2013）软件中 ClustalW 进行多重序列比对，去除序列两端测序误差较大的区域，将处理后的序列在 NCBI 网站上进行 BLAST 比对、确认。应用 MEGA6.0 软件分析碱基组成、保守位点、变异位点、简约信息位点、自裔位点、转换和颠换碱基对数以及计算单倍型间的遗传距离；以苹果蠹蛾 *Cydia pomonella*（L.）的 COⅡ基因片段(GenBank 登录号：JX407107.2)为外群，采用最大似然法(maximum likelihood, ML)构建不同地理种群的大豆食心虫单倍型聚类树，并对各分支的置信度自展法(Bootstrap)进行 1 000 次重复检验；采用不加权配对算数法(unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)以不同地理种群间遗传距离矩阵构建不同地理种群间系统发育树。利用 DnaSP 5.0 软件(Librado and Rozas, 2009)分析 19 个地理种群内 COⅡ基因序列单倍型数目和出现的频率、单倍型多样度 *Hd*、核苷酸多样度 *Pi*、核苷酸平均差异数 *K*、基因流 *Nm*、遗传分化系数 *Gst*、固定系数 *Fst*、种群间核苷酸平均差异数 *Kxy*、核苷酸歧义度 *Dxy* 等分子遗传学系数并进行中性检验(Tajima, 1989)。依据经纬度计算各采集地之间的地理距离，使用 GenAlEx6.41 软件中 Mantel 检验(Peakall and Smouse, 2006)检验不同地理种群间遗传距离与地理

距离自然对数值的相关性。单倍型网络图由 Network5.0 软件(Polzin and Daneschm, 2003)绘制。

19 个地理种群按照其所在区域共分为 5 个地理种群组:都安(DA)属华南组;延安(YA)属西北组;贵阳(GY)和大方(DF)属西南组;宿州(SZ)、徐州(XZ)及沧州(CZ)属黄淮组;普兰店(PLD)、沈阳(SY)、本溪(BX)、铁岭(TL)、赤峰(CF)、扎兰屯(ZLT)、绥化(SH)、佳木斯(JMS)、黑河(HH)、和龙(HL)、长春(CC)和安图(AT)划分为东北组。根据以上分组,应用 Arlequin3.5.1.2 软件(Excoffier *et al*., 2005)进行 AMOVA 分子变异分析以评估大豆食心虫的遗传分化情况,同时应用 DnaSP 5.0 软件分析 5 组大豆食心虫地理种群的基因流 *Nm* 和固定系数 *Fst*。

2 结果

2.1 碱基组成及序列变异

COⅡ基因片段预期扩增长度为 750 bp,经多重序列比对剪切后,本研究最终获得 19 个大豆食心虫地理种群线粒体 COⅡ基因长度为 723 bp 的序列片段。本研究共获得 208 条序列,均没有碱基的缺失和插入,保守位点 662 个(91.56%);变异位点 61 个(8.44%),其中简约信息位点 39 个(63.93%),自裔位点 22 个(36.07%)。核苷酸替换分析表明,转换的位点数 55 个,A 与 G 之间的转换为 16 个,C 与 T 之间的转换为 39 个;发生颠换的位点数 6 个;另有 1 个 C/G/T 和 1 个 A/G/T 三碱基变异位点,总体序列变异中转换多于颠换,符合亲缘关系较近的分类阶元中核苷酸替换的转换多于颠换的研究结果(Simon *et al*., 1994)。所测序列 COⅡ基因片段组成中,A + T 平均含量为(75.60%),明显高于 C + G 含量(24.40%),表现出明显的碱基偏向性,符合昆虫线粒体基因序列碱基组成特点(Liu and Beckenbah, 1992)。

2.2 遗传多样性和单倍型分析

在 19 个大豆食心虫地理种群中共获得 57 种单倍型,分别记录为 H1 – H57(KX119989 – KX120045)。应用 Kimura-2-Parameter 模型计算单倍型之间的遗传距离,结果显示不同单倍型遗传距离在 0.0010 ~ 0.0420 之间,平均遗传距离为 0.0090。单倍型 H3 出现频率最高(70/208),占所有检测个体的 33.65%,出现在所检测的 18 个地理种群中;其次出现频率较高的单倍型是 H4(25/208),占所有检测个体的 12.01%,出现在所检测的 11 个地理种群中。单倍型网络中介图显示(图 1),单倍型 H3 位于单倍型网络中介图的中心,其他单倍型围绕其分布,单倍型 H19, H20, H21, H27 和 H28 与其他单倍型相对遗传距离较远,且与其他单倍型有明显分支。

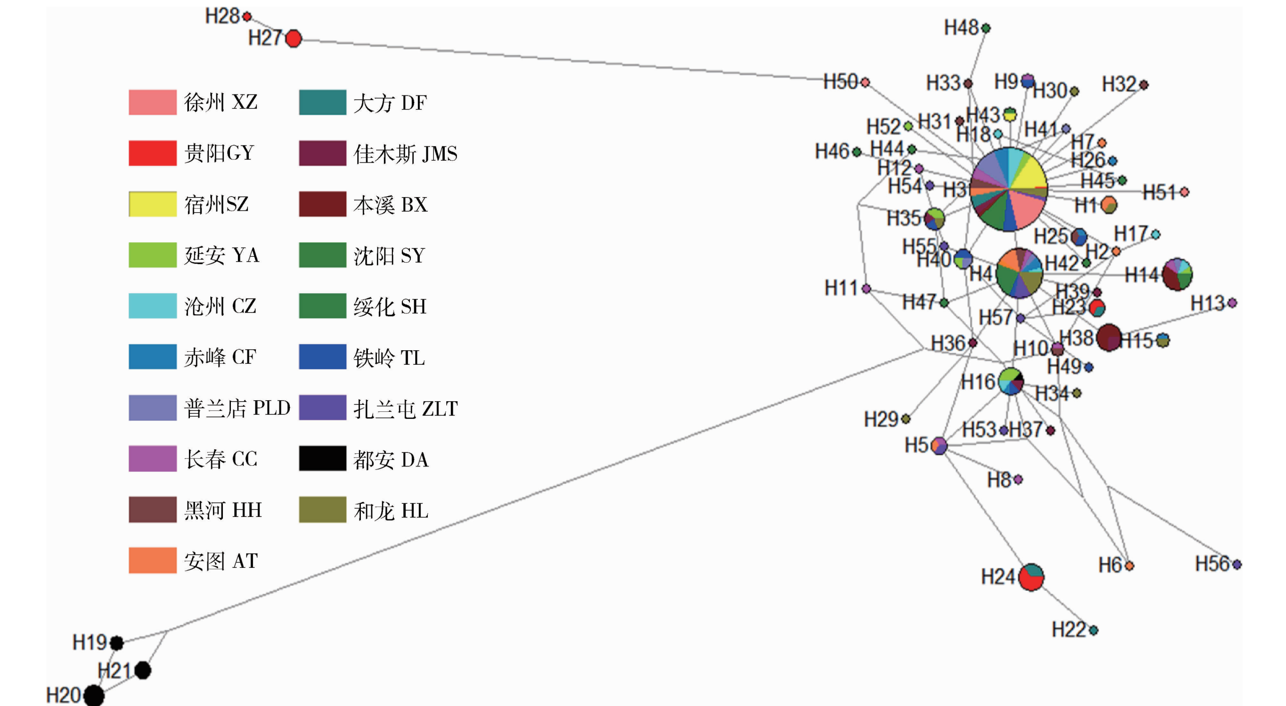


图 1 大豆食心虫不同地理种群线粒体 COⅡ基因各单倍型的中介网络图

Fig. 1 Haplotype network of different geographic populations of *Leguminivora glycinivorella* based on mitochondrial COII gene

H1 – H57: 在 19 个大豆食心虫地理种群中定义的单倍型 Haplotypes of 19 geographic populations of *L. glycinivorella*. 下同 The same below. 圆面积代表单倍型出现频率。Circle areas are proportional to haplotype frequencies.

根据 DnaSP5.0 软件分析结果表明(表2),大豆食心虫 19 个地理种群间存在一定的遗传差异。总群体单倍型多样度 $Hd = 0.8522$,核苷酸多样度 $Pi = 0.0065$,核苷酸平均差异数 $K = 4.6995$。各地理种群单倍型数量范围在 2 ~ 10 个之间,长春(CC)种群单倍型数量最丰富,在检验个体中定义了 10 种单倍型。各地理种群的单倍型多样度 Hd 范围为 0.1818 ~ 0.9546,其中宿州(SZ)种群单倍型多样度最低,长春(CC)种群单倍型多样度最高。从 Tajima's D 检测结果可以得出,19 个地理种群的中性检测结果除徐州(XZ)外均不显著,且总群体的 Tajima's D 值为负值,结果不显著($0.10 > P > 0.05$),表明 19 个地理种群的大豆食心虫总体上在较近的历史时期未经历明显的种群扩张。

表 2　大豆食心虫不同地理种群 COⅡ基因单倍型多样度、核苷酸多样性分析及 Tajima's *D* 中性检验

Table 2　COII haplotype diversity, nucleotide diversity and Tajima's *D* test of different geographic populations of *Leguminivora glycinivorella*

种群代码 Population code	单倍型分布 Haplotype distribution *h*	单倍型多样度 Haplotype diversity *Hd*	核苷酸多样度 Nucleotide diversity *Pi*	核苷酸平均差异数 Average number of nucleotide differences *K*	中性检测 Tajima's *D*	中性检验显著性 Statistical significance
DA	H16(1)H19(2)H20(5)H21(3)	0.6909	0.0065	4.6909	−0.7498	$P>0.10$
GY	H3(1)H23(2)H24(5)H27(3)H28(1)	0.7879	0.0170	12.273	1.0183	$P>0.10$
SZ	H3(10)H43(1)	0.1818	0.0003	0.1818	−1. 5334	$P>0.10$
YA	H3(2)H14(1)H16(3) H35(2)H40(1)H52(1)	0.8889	0.0035	2.5111	−1.1028	$P>0.10$
CZ	H3(5)H4(1)H14(1) H16(1)H17(1)H18(1)	0.7778	0.0023	1.6667	−1.3827	$P>0.10$
CF	H3(4)H4(2)H15(1) H16(1)H25(1)H26(1)	0.8667	0.0002	1.5556	−1.1028	$P>0.10$
PLD	H3(7)H4(1)H14(1)H40(1)H41(1)	0.6182	0.0015	1.0546	−1.4646	$P>0.10$
CC	H3(3)H4(1)H5(1)H8(1)H9(1)H10(1) H11(1)H2(1)H13(1)H14(1)	0.9546	0.0041	2.9697	−1.5334	$P>0.10$
HH	H3(3)H4(2)H10(1)H25(1) H31(1)H32(1)H33(1)	0.9111	0.0023	1.6667	−1.3827	$P>0.10$
AT	H1(2)H2(1)H3(2)H4(3) H5(1)H6(1)H7(1)	0.9091	0.0031	2.2364	−1.5916	$0.10>P>0.05$
DF	H3(3)H22(1)H23(1)H24(3)	0.7857	0.0049	3.5714	−0.8552	$P>0.10$
JMS	H3(2)H16(1)H35(1)H36(1) H37(1)H38(2)H39(1)	0.9444	0.0033	2.3889	−1.4646	$P>0.10$
BX	H3(1)H14(4)H38(6)	0.6182	0.0024	1.7455	−1.3298	$P>0.10$
SY	H3(6)H4(1)H14(2)H42(1)H43(1)H44(1)	0.7576	0.0023	1.6818	−1.0740	$P>0.10$
SH	H3(2)H4(6)H45(1)H46(1)H47(1)H48(1)	0.7576	0.0021	1.5303	−1.1285	$P>0.10$
TL	H3(4)H4(1)H9(1)H16(1)H25(1) H35(1)H40(2)H49(1)	0.8939	0.0024	1.7121	−1.41244	$P>0.10$
XZ	H3(12)H50(1)H51(1)	0.2747	0.0008	0.5714	−1.79759	$P<0.05$
ZLT	H3(1)H4(3)H5(1)H53(1)H54(1) H55(1)H56(1)H57(1)	0.9333	0.0039	2.8444	−0.48329	$P>0.10$
HL	H1(1)H3(2)H4(4)H15(1)H29(1) H30(1)H34(1)H35(1)	0.8939	0.0028	2.0303	−0.86572	$P>0.10$
总种群 Total populations		0.8522	0.0065	4.6995	−1.74916	$0.10>P>0.05$

种群代码信息见表 1。Population code information see Table 1. 下同 The same below.

2.3 系统发育分析

COⅡ基因单倍型 ML 树显示(图 2),单倍型 H19, H20 和 H21 是都安(DA)特有单倍型聚为一支,单倍型 H27 和 H28 为贵阳(GY)特有单倍型亦聚为一支,贵阳和都安的特有单倍型与其他地理种群间遗传距离相差较大。在所构建单倍型系统发育树中,尽管有距离较近地理种群的单倍型优先聚在一个分支[如黑河(HH)的 H33 和绥化(SH)的 H48],但也有地理距离相距较远的单倍型聚在一起的情况[如扎兰屯(ZLT)的 H56 和安图(AT)的 H6],且各分支间置信度较低,说明这些单倍型之间差异较小,不能形成可靠的分支。基于大豆食心虫不同地理种群间的遗传距离构建的 UPGMA 聚类树显示(图3),其分支情况与单倍型系统发育树情况一致。即贵阳(GY)和都安(DA)种群单独形成分支,形成具有较大遗传差异性地理种群,与其他地理种群分化明显。

2.4 遗传分化分析

大豆食心虫各地理种群总遗传分化系数 Gst = 0.1186,总固定系数 Fst = 0.4619,总基因流 Nm = 0.29;大豆食心虫东北组、华南组、西南组、西北组及黄淮组 5 组间基因流 Nm = 0.13,固定系数 Fst = 0.6498。各地理种群间核苷酸差异数 Kxy 在 0.6364 ~ 23.8485 之间,核苷酸歧义度 Dxy 在 0.0016 ~ 0.0290 之间,遗传分化系数 Gst 在 −0.2134 ~ 0.3924 之间,固定系数 Fst 在 −0.0547 ~ 0.8744 之间。都安(DA)和贵阳(GY)种群与其他地理种群间的 Fst 值在 0.1606 ~ 0.8744 之间,遗传分化水平较高,其余 17 个地理种群间遗传分化程度则相对较低(表 3)。

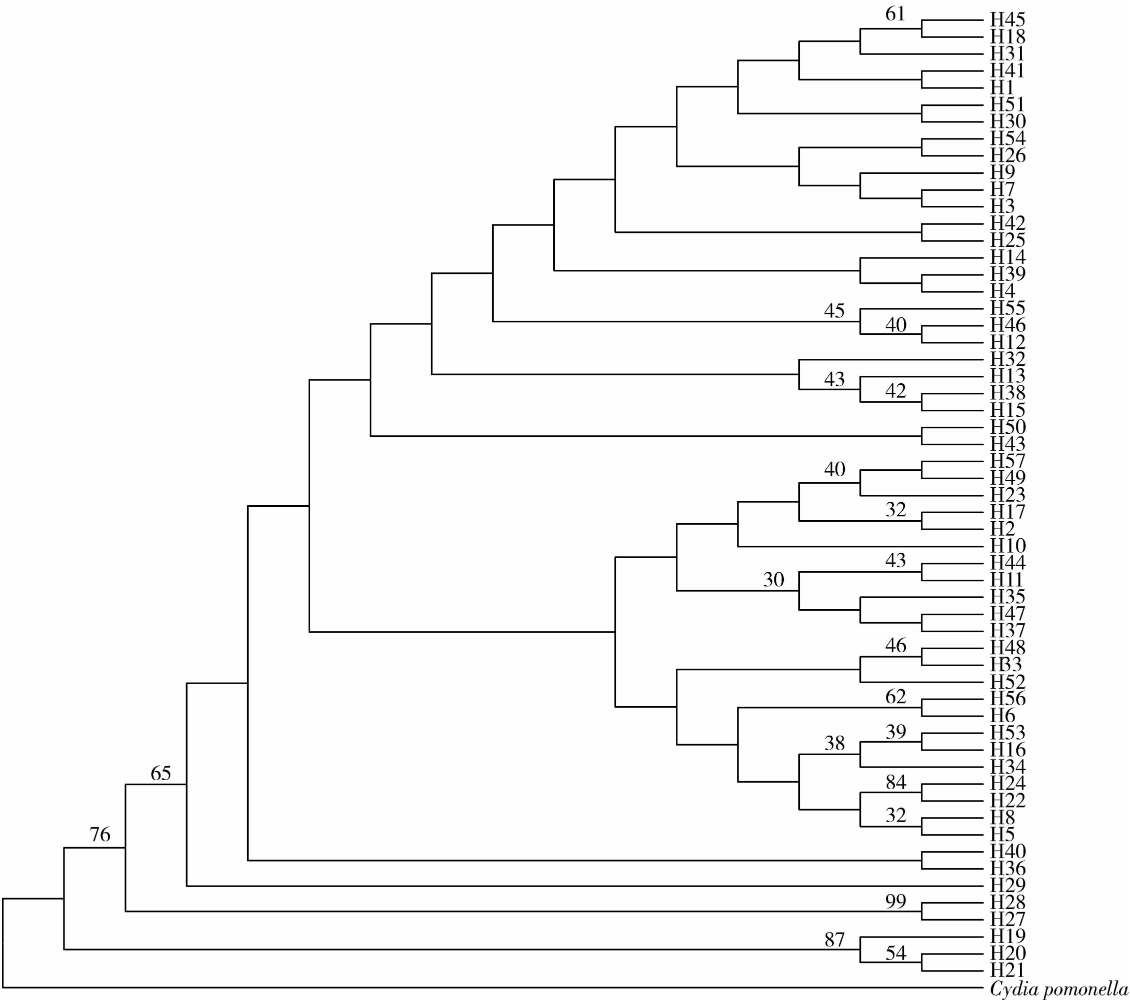


图 2 最大似然法(ML)法构建大豆食心虫不同地理种群线粒体 COⅡ基因单倍型系统树

Fig. 2 Maximum likelihood (ML) phylogenetic tree of mitochondrial COII gene haplotypes from different geographic populations of *Leguminivora glycinivorella*

苹果蠹蛾 COⅡ基因为外群。COII gene sequence of *Cydia pomonella* was used as the outgroup.

表 3 基于线粒体 COⅡ基因大豆食心虫不同地理种群间遗传距离(上三角)与固定系数 *Fst*(下三角)

Table 3 Genetic distance (above the diagonal) and *Fst* (below the diagonal) values among different geographic populations of *Leguminivora glycinivorella* based on mitochondrial COⅡ gene

种群代码 Population code	AT	CC	HL	PLD	BX	SY	TL	SH	JMS	HH	CF	ZLT	DF	GY	SZ	YA	CZ	XZ	DA
AT		0.0035	0.0029	0.0024	0.0031	0.0029	0.0028	0.0026	0.0032	0.0027	0.0026	0.0034	0.0049	0.0138	0.0020	0.0032	0.0027	0.0023	0.0285
CC	−0.0287		0.0033	0.0029	0.0034	0.0033	0.0033	0.0031	0.0036	0.0033	0.0031	0.0038	0.0054	0.0144	0.0027	0.0036	0.0032	0.0029	0.0289
HL	−0.0240	−0.0405		0.0023	0.0029	0.0027	0.0028	0.0024	0.0029	0.0026	0.0024	0.0034	0.0050	0.0140	0.0020	0.0031	0.0026	0.0022	0.0284
PLD	0.0428	0.0446	0.0661		0.0021	0.0018	0.0019	0.0020	0.0027	0.0019	0.0019	0.0031	0.0045	0.0135	0.0009	0.0025	0.0018	0.0012	0.0295
BX	0.1045	0.0335	0.0838	0.0794		0.0024	0.0028	0.0025	0.0032	0.0026	0.0025	0.0036	0.0053	0.0145	0.0019	0.0031	0.0024	0.0022	0.0298
SY	0.0458	0.0207	0.0455	−0.0439	0.0035		0.0024	0.0024	0.0031	0.0023	0.0023	0.0036	0.0051	0.0141	0.0014	0.0029	0.0022	0.0017	0.0292
TL	0.0129	0.0258	0.0579	−0.0201	0.1517	0.0226		0.0025	0.0031	0.0023	0.0024	0.0035	0.0046	0.0134	0.0014	0.0029	0.0023	0.0017	0.0290
SH	0.0096	−0.0189	−0.0337	0.0877	0.1029	0.0522	0.0951		0.0027	0.0022	0.0021	0.0031	0.0046	0.0138	0.0016	0.0029	0.0023	0.0019	0.0287
JMS	0.0002	−0.0484	−0.0467	0.1168	0.0985	0.0803	0.0811	−0.0126		0.0030	0.0027	0.0035	0.0052	0.0143	0.0024	0.0034	0.0029	0.0027	0.0282
HH	0.0016	0.0135	0.0185	−0.0181	0.1021	−0.0046	−0.0036	0.0113	0.0544		0.0022	0.0034	0.0048	0.0138	0.0014	0.0030	0.0022	0.0016	0.0291
CF	−0.0124	−0.0285	−0.0547	0.0430	0.0831	0.0288	0.0483	−0.0286	−0.0201	−0.0197		0.0031	0.0047	0.0138	0.0015	0.0028	0.0022	0.0018	0.0287
ZLT	−0.0274	−0.0508	−0.0086	0.1353	0.1235	0.1183	0.0887	0.0206	−0.0329	0.0756	0.0090		0.0052	0.0141	0.0029	0.0037	0.0033	0.0032	0.0284
DF	0.1730	0.1514	0.2138	0.2883	0.3037	0.2837	0.2075	0.2347	0.1994	0.2463	0.2460	0.1330		0.0134	0.0043	0.0048	0.0048	0.0046	0.0303
GY	0.2594	0.2534	0.2778	0.3030	0.3147	0.3013	0.2640	0.2911	0.2750	0.2888	0.2921	0.2441	0.1606		0.0132	0.0139	0.0139	0.0134	0.0340
SZ	0.1688	0.1811	0.2234	0.0286	0.2933	0.0611	0.0602	0.2710	0.2687	0.0673	0.2037	0.2763	0.3929	0.3350		0.0022	0.0014	0.0005	0.0294
YA	−0.0160	−0.0473	−0.0092	0.0243	0.0598	0.0017	−0.0055	0.0222	−0.0069	0.0239	0.0033	0.0008	0.1185	0.2457	0.1537		0.0029	0.0025	0.0291
CZ	−0.0174	−0.0079	0.0097	−0.0466	0.0276	−0.0464	−0.0036	0.0163	0.0445	−0.0417	−0.0197	0.0523	0.2463	0.2936	0.0673	−0.0140		0.0016	0.0296
XZ	0.1488	0.1645	0.1965	0.0219	0.2567	0.0630	0.0504	0.2324	0.2419	0.0562	0.1728	0.2528	0.3696	0.3257	0.0000	0.1369	0.0562		0.0298
DA	0.8275	0.8113	0.8317	0.8615	0.8462	0.8449	0.8429	0.8459	0.8215	0.8448	0.8451	0.8116	0.8058	0.6444	0.8820	0.8240	0.8474	0.8744	

对东北组、华南组、西南组、西北组及黄淮组进行 AMOVA 分析后显示,组间变异占方差比率的 57.01%,组内种群间变异占方差比率的 2.58%,种群内变异占方差比率的 40.41%,表明遗传变异主要来自组间(表 4)。采用 Kimura-2-Paramter 模型分析大豆食心虫不同地理种群遗传距离,发现不同地理种群遗传距离在 0.0005 ~ 0.0567 之间,东北组 12 个地理种群间的遗传距离在 0.0018 ~ 0.0038 之间(表 3)。除都安(DA)和贵阳(GY)与其他地理种群之间的遗传距离较大外,其余均较低。东北组各地理种群间遗传距离与地理距离的 Mantel 相关性分析表明(图 4: B),各地理种群间基因交流受地理距离的影响较小($r = -0.02$, $P = 0.56 > 0.05$);但在全国范围内,19 个地理种群间遗传距离与地理距离的 Mantel 相关性分析表明(图 4: A),大豆食心虫各地理种群间地理距离与遗传分化程度存在相关性($r = 0.394$, $P = 0.01 < 0.05$),说明在较大区域范围内,地理距离是影响大豆食心虫不同地理种群间遗传距离和基因交流的重要因素之一。

3 讨论

祖元刚等(1999)认为一个物种群体内部的遗传多样性能反映此物种对环境变化的适应能力。本试验研究结果显示,19 个大豆食心虫地理种群总群体的单倍型多样度 $Hd = 0.8522$,共57种单倍型,表

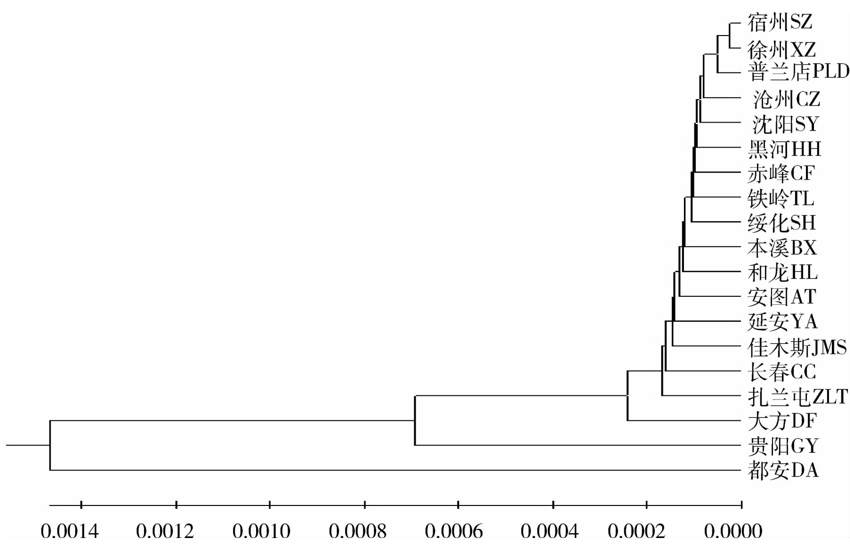


图 3 UPGMA 法构建大豆食心虫 19 个地理种群线粒体 COⅡ基因系统发育树

Fig. 3 UPGMA phylogenetic tree of mitochondrial COII gene haplotypes from 19 geographic populations of *Leguminivora glycinivorella*

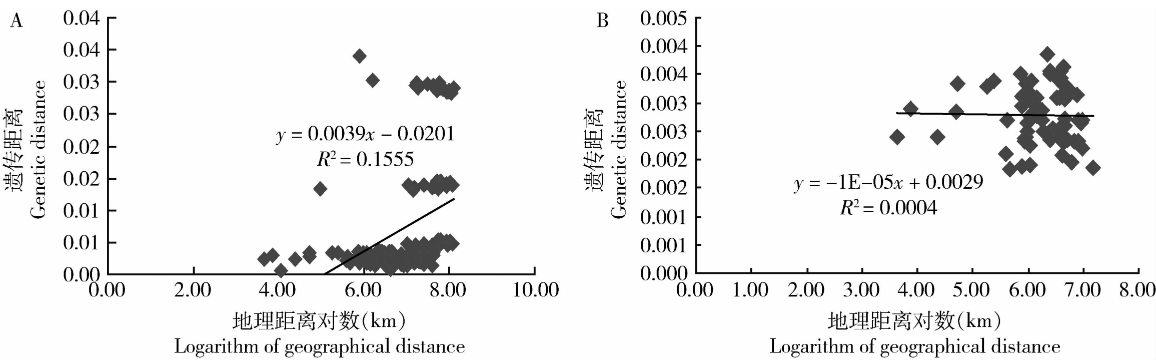


图 4 基于线粒体 COⅡ基因大豆食心虫不同地理种群间遗传距离与地理距离对数的 Mantel 检验

Fig. 4 Mantel test between genetic distance and the logarithm of geographic distance among different geographic populations of *Leguminivora glycinivorella* based on mitochondrial COⅡ gene

A: 19 个地理种群 Nineteen geographic populations; B: 东北组 Northeast China population group.

表 4　大豆食心虫不同地理种群组间遗传变异的分子变异分析

Table 4　AMOVA analysis of different geographic population groups of *Leguminivora glycinivorella*

变异来源 Source of variation	自由度 *df*	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	变异百分率 Percentage of variation	固定指数 Fixation index
组间 Among groups	4	213.86	1.78 *Va*	57.01	*Fct* = 0.57 ($P < 0.01$)
组内种群间 Among populations within a group	14	30.02	0.08 *Vb*	2.58	*Fsc* = 0.06 ($P < 0.05$)
种群内 Within a population	189	238.43	1.26 *Vc*	40.41	*Fst* = 0.60 ($P < 0.00001$)

Va, *Vb*, *Vc*: 方差组分的数量 Number of variance components.

明大豆食心虫种群具有较高的单倍型多态性，整体的遗传多样性相对较高；杨哲等（2015）采用 COⅠ基因研究亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 种群间遗传多样性，共检测出 48 种单倍型，认为亚洲玉米螟对不同寄主植物环境具有较强的适应能力和较高的遗传变异潜力，与本试验结果类似，同时在本研究中发现 19 个地理种群的单倍型多样度与核苷酸多样度均存在一定差异，体现出不同的遗传多样性水平。孙嵬等（2013）研究认为，可能是生态栖息环境的多样性，造成黄胫小车蝗 *Oedaleus infernalis* 种群内丰富的遗传多态性；李春选等（2003）研究表明，中华稻蝗 *Oxya chinensis*，长翅素木蝗 *Shirakiacris shirakii*，笨蝗 *Haplotropis brunneriana* 及短额负蝗 *Atractomorpha sinensis* 因其对栖息环境的依赖程度，体现出不同的遗传多样性水平，由此推测大豆食心虫不同地理种群遗传多样性水平不同的原因可能是因为其成虫飞行能力较弱，地理屏障如峡谷、山脉等会有效限制大豆食心虫的扩散和迁移，同时野生大豆分布及栽培大豆区域范围等寄主条件也是其发生分布的限制因素。

在 19 个大豆食心虫地理种群获得的 57 种单倍型中，单倍型 H3，H4，H14 和 H16 至少被 6 个种群共享，为主体单倍型；单倍型 H19，H20，H21 和 H27 等单倍型为某个地理种群所特有，为独享单倍型。独享单倍型和共享单倍型的出现则说明各地理种群在存在着一定基因交流的同时，也具有一定程度上的遗传分化（孙嵬等，2013；刘晓娜等，2016）。大豆食心虫总群体 Tajima's *D* 的值为 −1.74916 且检验结果不显著，表明序列在进化上符合中性模型，大豆食心虫总体在较近的历史时期内未经历群体扩张，种群大小保持相对稳定的状态（Harpending *et al*.，1998；王兴亚和许国庆，2014）。

Fst 是衡量遗传分化程度的一个重要参数，西南组的贵阳（GY）和华南组的都安（DA）种群与东北组、西北组及黄淮组间的 *Fst* 值达到 0.2441 以上，遗传分化程度较大。但西南组的大方（DF）种群与其他种群的 *Fst* 值在 0.1185 ~ 0.3037 之间，大多处于中等遗传分化水平，且大方（DF）种群在两个系统树中均与贵阳（GY）种群不在同一分支上，究其原因可能是因为大方（DF）种群样本的采样地位于贵州省西北部，地处云贵高原向黔中原丘陵过渡的斜坡地带，属北亚热带湿润季风气候，相对为高纬度（27°08′N）高海拔（1 512 m）地区；而贵阳种群采集地位于贵州省中部，地处丘原盆地地区，属亚热带湿润温和型气候，其纬度为 26°50′N，海拔为 1 134.2 m，纬度与海拔均低于大方县。相关研究表明，海拔高度每增高 100 m，气温降低 0.5 ~ 0.6℃，光照增加 4% ~ 5%，即大方地区的光照时间长于贵阳地区，温度则低于贵阳地区，其温度环境更趋近于高纬度地区。史树森等（2014）研究表明温度对大豆食心虫卵的发育速率、幼虫存活率、幼虫期营养积累均有影响，且大豆食心虫属"长日照昆虫"，因此笔者认为贵阳（GY）与大方（DF）种群间产生一定遗传分化的原因可能是二者所处气候、生态环境存在较大差异所致。

王红等（2014）和 Wang 等（2015）对中国东北地区大豆食心虫地理种群进行了遗传多样性研究，结果表明大豆食心虫种群遗传分化程度较小，基因交流未受地理距离影响。而笔者研究了全国各大豆产区的 19 个大豆食心虫种群，结果表明，总群体固定系数 *Fst* = 0.4619，说明大豆食心虫不同地理种群间存在很大程度的遗传分化；总群体基因流 *Nm* = 0.29，表明各地理种群间基因流水平很低，可能由于遗传漂变发生了分化（张利娟等，2012）。同时，东北组、西北组、西南组、黄淮组、华南组 5 组间数据分析结果显示固定系数 *Fst* = 0.6498，基因流 *Nm* = 0.13，表明组间遗传分化程度较大。结合 AMOVA 分析和 Mantel 检验结果可知，大豆食心虫遗传变异主要来自组间，且大豆食心虫种群间的地理距离与遗传分化程度存在显著相关性，基因交流受地理距离影响。但在本研究中，如果将农业生态环境相对一致的东北组 12 个地理种群单独分析，其遗传距离

在0.0018～0.0038之间,遗传距离相对较小;东北组地理种群的大多数单倍型在ML单倍型系统发育树中都处于较为混杂的分布格局,未显示出明显的地理谱系,且东北组的地理种群在UPGMA聚类树中聚成一支,其地理种群间 *Fst* 值为 –0.5470～0.1517之间,遗传分化程度较低;将东北组各地理种群间遗传距离与地理距离的Mantel相关性分析显示,种群间基因交流受地理距离的影响较小,结果与王红等(2014)和Wang等(2015)研究的大豆食心虫中国东北10个地理种群遗传多样性分析结果类似。可见,只有当地理距离足以产生明显环境异质性的时候,才能导致大豆食心虫地理种群发生遗传分化。

对植食性昆虫来说,异域分布的昆虫产生种下分化是由地理和寄主的双重作用决定的(Pashley, 1986)。在本研究中,贵阳和都安所处地理纬度(23°94′～26°50′N)明显低于其他地区(33°63′N以北),属南方多作大豆区,大豆栽培品种和耕作制度多样,与其他种群所处地区的地理位置、海拔、气候及大豆种植品种、耕作制度均存在显著差异。张健等(2015)研究表明,环境因素对北美五倍子蚜 *Melaphis rhois* 的遗传分化影响较大,地理隔离能够阻碍蚜虫基因交流,各地理种群间分化显著;Tree和Walter(2009)研究表明,榕属 *Ficus* 不同品种寄主对母管蓟马属 *Mesothrips* 蓟马的行为特性和生活史具有一定影响。因此,综合分析单倍型在中介网络图和实际地理种群中的分布情况、单倍型系统进化树和以不同地理种群间遗传距离构建系统发育树的分析结果来看,地理距离、纬度、海拔的差异、栽培耕作制度及大豆种植品种等差异均可能是造成大豆食心虫不同地理种群产生遗传分化的重要原因。

本研究仅初步明确了中国大豆食心虫不同地理种群间的遗传分化及其与环境的关系,但因所选序列相对较短,个别地区样本数量较少,所获得的遗传学数据尚不够全面。因此在下一步的研究中,应增加试验采样地及样本数量和所选分子标记测序长度,并配合其他分子标记方法,以便深入探讨中国大豆食心虫不同地理种群间遗传分化状况及其形成机制。

参考文献(References)

Excoffier L, Laval G, Schneider S, 2005. Arlequin (version3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online*, 1(4A): L418–L421.

Harpending HC, Batzer MA, Gurven M, Jorde LB, Rogers AR, Sherry ST, 1998. Genetic traces of ancient demography. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(4): 1961–1967.

Hu D, Feng J, Wang Z, Wu H, Zhang X, 2013. Effect of nine plant volatiles in the field on the sex pheromones of *Leguminivora glycinivorella*. *Nat. Prod. Commun.*, 8(3): 393–396.

Hu DH, Cai CL, Zhang J, Feng JT, Zhang X, 2012. Convenient synthesis and field evaluation of the sex pheromone of *Leguminivora glycinivorella* and its analogues. *Chin. J. Pestic. Sci.*, 14(2): 125–130. [胡代花, 蔡崇林, 张璟, 冯俊涛, 张兴, 2012. 大豆食心虫性信息素及其类似物的简易合成及田间引诱活性. 农药学学报, 14(2): 125–130]

Li CX, Ma EB, Zheng XY, 2003. Genetic differentiation of different populations of four locust species in China. *Acta Genet. Sin.*, 30(3): 234–244. [李春选, 马恩波, 郑先云, 2003. 中国4种蝗虫不同种群的遗传分化. 遗传学报, 30(3): 234–244]

Li DM, Meng FL, Wang ZK, Zang ZY, Sun J, Li WB, 2012. Cloning and characterization of 28SrDNA gene from soybean pod borer (*Leguminivora glycinivorella* Matsumurav). *J. Northeast Agric. Univ.*, 43(7): 13–17. [李冬梅, 孟凡立, 王志坤, 臧振源, 孙晶, 李文滨, 2012. 大豆食心虫28SrDNA基因的克隆及表达分析. 东北农业大学学报, 43(7): 13–17]

Li J, Zhang Y, Wang ZY, He KL, Wang Q, 2010. Genetic differentiation and gene flow among different geographical populations of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) in China estimated by mitochondrial CO Ⅱ gene sequences. *Acta Entomol. Sin.*, 53(10): 1135–1143. [李菁, 张颖, 王振营, 何康来, 王强, 2010. 基于线粒体DNA COⅡ基因的亚洲玉米螟中国不同地理种群遗传分化及基因流研究. 昆虫学报, 53(10): 1135–1143]

Li R, Han LL, Wang H, Zhao KJ, Mang YL, Zhao HY, Fan D, 2015. Analysis of genetic differentiation among different geographic populations of *Aphis glycines* (Hemiptera: Aphididae) based on mtDNA COⅡ gene sequences. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 52(5): 1203–1214. [李冉, 韩岚岚, 王红, 赵奎军, 莽逸伦, 张红玉, 樊东, 2015. 基于线粒体COⅡ基因的大豆蚜不同地理种群遗传分化研究. 应用昆虫学报, 52(5): 1203–1214]

Liang RX, Wang ZY, He KL, Cong B, Li J, 2011. Genetic diversity of geographic populations of *Monolepta hieroglyphica* (Motschulsky) (Coleoptera: Chrysomelidae) from North China estimated by mitochondrial COⅡ gene sequences. *Acta Entomol. Sin.*, 54(7): 828–837. [梁日霞, 王振营, 何康来, 丛斌, 李菁, 2011. 基于线粒体COⅡ基因序列的双斑长跗萤叶甲中国北方地理种群的遗传多样性研究. 昆虫学报, 54(7): 828–837]

Librado P, Rozas J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(1): 1451–1452.

Liu H, Beckenbach AT, 1992. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase Ⅱ gene among 10 orders of insects. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 1(1): 41–52.

Liu XN, Xu LL, Cai Li, Du YM, Du YZ, 2016. Haplotype analysis of *Bemisia tabaci* biotype Q in Jiangsu Province, China. *J. Plant

Protect., 43(1): 70－77.［刘晓娜，许丽丽，蔡力，杜以梅，杜予州，2016. 江苏地区 Q 型烟粉虱的单倍型分析. 植物保护学报，43(1): 70－77］

Pang CJ, Han LL, Yang S, Zhao KJ, Wang L, 2012. Biological control of *Leguminivora glycinivorella*. *Soybean Sci. Technol*., (2): 31－35.［庞春杰，韩岚岚，杨帅，赵奎军，王玲，2012. 大豆食心虫生物防治研究进展. 大豆科技，(2): 31－35］

Pashley DP, 1986. Host associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a sibling species complex. *Ann. Entomol. Soc. Am*., 79(6): 898－904.

Peakall R, Smouse PE, 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, 6(1): 288－295.

Polzin T, Daneschm SV, 2003. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Oper. Res. Lett*., 31(1): 12－20.

Sakagami SF, Tanno K, Tsutsui H, Honma K, 1985. The role of cocoons in overwintering of the soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella* (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Kansas Entomol. Soc*., 58(2): 240－247.

Shi SS, Cui J, Xu W, Wu TT, Qi LZ, Li WY, Song PX, Zhang M, 2014. Effects of temperature on growth of *Leguminivora glycinivorella* eggs and larva. *Chin. J. Oil Crop Sci*., 36(2): 250－255.［史树森，崔娟，徐伟，武婷婷，齐灵子，李维宇，宋鹏翔，张萌，2014. 温度对大豆食心虫卵和幼虫生长发育的影响. 中国油料作物学报，36(2): 250－255］

Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequence and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am*., 87(6): 651－701.

Song LW, Wen XY, Zang LS, Ruan CC, Shi SS, Shao XW, Zhang F, 2015. Parasitism and suitability of different egg ages of the *Leguminivora glycinivorella* (Lepidoptera: Tortricidae) for three indigenous *Trichogramma* species. *J. Econ. Entomol*., 108(3): 933－939.

Song PX, Cui J, Li WY, Wu TT, Zhang M, Qin HD, Shi SS, 2014. Control efficacy of 5 pesticides on *Leguminivora glycinivorella*. *Soybean Sci. Technol*., (2): 40－42.［宋鹏翔，崔娟，李维宇，武婷婷，张萌，秦昊东，史树森，2014. 5 种杀虫剂对大豆食心虫防治效果. 大豆科技，(2): 40－42］

Sun W, Zhang ZT, Dong H, Qian HT, Shi Y, Xie LN, Cong B, 2013. Analysis of genetic differentiation and gene flow among different geographic populations of *Oedaleus infernalis* (Orthoptera: Acrididae) based on mtDNA COI gene sequences. *Acta Entomol. Sin*., 56(8): 907－916.［孙嵬，张柱亭，董辉，钱海涛，石玉，谢丽娜，丛斌，2013. 基于线粒体 COI 基因序列的黄胫小车蝗不同地理种群的遗传分化及基因流分析. 昆虫学报，56(8): 907－916］

Tajima F, 1989. The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 597－601.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol*., 30(12): 2725－2729.

Tree DJ, Walter GH, 2009. Diversity of host plant relationships and leaf galling behaviours within a small genus of thrips－*Gynaikothrips* and *Ficus* in south east Queensland, Australia. *Aust. J. Entomol*., 48(4): 269－275.

Wang H, Han LL, Xu ZX, Ye LF, Wang L, Zhao KJ, 2015. Absence of geographic population structure in the soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella* (Tortricidae). *J. Lepid. Soc*., 69(3): 173－182.

Wang H, Xu ZX, Han LL, Wang KQ, Zhao KJ, 2014. Analysis of the genetic diversity in geographic populations of *Leguminivora glycinivorella* (Lepidoptera: Olethreutidae) from northeastern China based on mitochondrial DNA COI gene sequences. *Acta Entomol. Sin*., 57(9): 1051－1060.［王红，徐忠新，韩岚岚，王克勤，赵奎军，2014. 基于线粒体 COI 基因序列的大豆食心虫中国东北地理种群遗传多样性分析. 昆虫学报，57(9): 1051－1060］

Wang XY, Xu GQ, 2014. Analysis of genetic diversity in different geographic populations of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) with AFLP technique. *Acta Entomol. Sin*., 57(9): 1061－1074.［王兴亚，许国庆，2014. 中国甜菜夜蛾地理种群的遗传分化与基因流. 昆虫学报，57(9): 1061－1074］

Xu QF, Guo SG, Han YM, Feng Z, Zhang R, Li YZ, 1965. The study of *Leguminivora glycinivorella* (Mats.) Obraztsov. *Acta Entomol. Sin*., 14(5): 461－475.［徐庆丰，郭守桂，韩玉梅，冯真，张荣，李义忠，1965. 大豆食心虫 *Leguminivora glycinivorella* (Mats.) Obraztsov 的研究. 昆虫学报，14(5): 461－475］

Yang X, Zhao KJ, Wang KQ, Han LL, Yang S, 2012. Observation on antennal sensillia of *Leguminivora glycinivorella* with scanning electron microscope. *Chin. J. Appl. Entomol*., 49(5): 1321－1326.［杨啸，赵奎军，王克勤，韩岚岚，杨帅，2012. 大豆食心虫触角感器的扫描电镜观察. 应用昆虫学报，49(5): 1321－1326］

Yang Z, Dong H, Hu ZF, Duan LJ, Yu C, Cong B, 2015. Genetic diversity among different host populations of *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) in northeastern China based on mitochondrial gene sequences. *J. Plant Protect*., 42(6): 970－977.［杨哲，董辉，胡志凤，段立佳，于超，丛斌，2015. 东北地区亚洲玉米螟不同寄主植物种群线粒体基因遗传多样性. 植物保护学报，42(6): 970－977］

Zhang J, Ren ZM, Wen J, 2015. Population genetic differentiation of *Melaphhis rhois* inferred form mtDNA COI sequences. *J. Shanxi Univ.* (*Nat. Sci. Ed.*), 38(2): 350－354.［张健，任竹梅，文军，2015. 北美五倍子蚜 mtDNA COI 基因序列遗传分化. 山西大学学报(自然科学版)，38(2): 350－354］

Zhang LJ, Shen DR, Sun YX, Li ZY, Zhang HR, 2012. Analysis of genetic differentiation among geographic populations of *Gynaikothrips ficorum* (Marchal) (Thysanoptera: Phlaeothripidae) in Yunnan, southwestern China, based on mtDNA COⅠ gene sequences. *Acta Entomol. Sin*., 55(2): 199－207.［张利娟，沈登荣，孙跃先，李正跃，张宏瑞，2012. 基于 mtDNA COⅠ基因序列的云南榕母管蓟马不同地理种群的遗传分化分析. 昆虫学报，55(2): 199－207］

Zhao YT, Shi XR, Xie GQ, 2015. Research on occurrence dynamic and control technology for *Leguminivora glycinivorella* in Mudanjiang hilly region. *Heilongjiang Agric. Sci.*, (1): 57 – 59. [赵云彤, 时新瑞, 解国庆, 2015. 牡丹江丘陵区大豆食心虫发生动态及其防治技术的研究. 黑龙江农业科学, (1): 57 – 59]

Zu YG, Sun M, Kang L, 1999. Theory, Method and Application of Molecular Ecology. Higher Education Press, Beijing. 30 – 37. [祖元刚, 孙梅, 康乐, 1999. 分子生态学理论、方法和应用. 北京: 高等教育出版社. 30 – 37]

(责任编辑: 马丽萍)